# تأثیر افزودن پودر چای سبز *Camellia sinensis* به جیره‌ی غذایی بر برخی فاکتورهای ایمنی و پروتئین‌های سرم در ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio*

مژگان خدادادی[۱*] و شکوفه رنجبر[۲]

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۷


## چکیده

در این بررسی تأثیر عملکرد گیاه چای سبز *Camellia sinensis* به عنوان یک فیتوبیوتیک بر فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزن اولیه ۱±۲۲ گرم انتخاب و پس از سازگاری با محیط به صورت انتخابی در ۱۲ مخزن و در هر مخزن ۳۰ قطعه بچه ماهی ذخیره شد. گیاه چای سبز در ۳ سطح ۱/۵ درصد (تیمار ۲)، ۳ درصد (تیمار ۳) و ۵ درصد (تیمار ۴) به جیره‌ی غذایی اضافه گردید و جیره فاقد چای سبز برای تغذیه گروه شاهد (تیمار ۱) مورد استفاده قرار گرفت. هر تیمار در ۳ تکرار انجام گرفت. ماهیان روزانه به میزان ۳ درصد از وزن بدن مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره ۴۵ روزه تعداد ۱۵ قطعه ماهی از هر تیمار به صورت تصادفی انتخاب شده و خون‌گیری از آن‌ها از محل قطع ساقه‌ی دمی انجام گرفت. فاکتورهای ایمنی شامل شمارش تفریقی گلبول‌های سفید، ایمنوگلوبولین M (IgM) سرم و لایزوزیم و پروتئین‌های سرم شامل پروتئین تام و آلبومین مورد بررسی قرار گرفتند، نتایج نشان داد که میزان فعالیت لایزوزیم اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد داشته است ($P<۰/۰۵$) و بیش‌ترین میزان آن ۱۵/۳۳±۱۳۵/۶۷ (واحد در میلی‌لیتر در دقیقه) در تیمار ۱/۵ درصد بوده است. در فاکتور پروتئین تام و ایمنوگلوبولین نیز بیش‌ترین میزان آن‌ها به ترتیب ۰/۴۸±۴/۸۹ (گرم در دسی‌لیتر) و ۰/۵۲±۳/۳۵ (گرم در دسی‌لیتر) در تیمار ۱/۵ درصد مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). ولی میزان آلبومین تحت تأثیر هیچ کدام از موارد آزمایشی قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). به طور کلی تجویز پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد به صورت خوراکی باعث تحریک برخی فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی می‌گردد و این ماده به عنوان محرک ایمنی در بچه ماهی کپور معمولی قابل استفاده است.


**کلمات کلیدی:** چای سبز، کپور معمولی، فاکتورهای ایمنی، فیتوبیوتیک

## مقدمه

در سال‌های اخیر آبزی‌پروری از سریع‌الرشدترین بخش‌های تولید مواد غذایی بوده و از چندین دهه‌ی گذشته به سرعت به یک صنعت پویا و رو به رشد تبدیل شده است (اکرمی و همکاران ۱۳۸۷). از عمده‌ترین مخاطراتی که پرورش‌دهندگان ماهی با آن مواجه هستند، کاهش میزان زنده‌مانی خصوصاً در مراحل اولیه‌ی زندگی می‌باشند، لذا تقویت و ارتقاء سیستم ایمنی و دفاع بدن ماهیان به ویژه در گونه‌های با ارزش و اقتصادی از اصلی‌ترین نیازهای پرورش‌دهندگان می‌باشد (Magnadottir 2006). در ماهی محرک‌های ایمنی باعث افزایش جنبه‌های مشخص ایمنی ذاتی می‌شوند. اخیراً در آبزی‌پروری استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک‌های ایمنی جهت تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان پرورشی رایج شده است (Rao et al. 2006). در چند دهه‌ی اخیر استفاده از گیاهان دارویی با توجه به مزیت‌های متعدد، از جمله خطرات جانبی کم‌تر بر موجود زنده و محیط زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان، پایدار و در دسترس بودن توجهات زیادی را در سطح جهان به ویژه

[۱*] دانشیار گروه شیلات، دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز E-mail: mjkhodadadi@gmail.com (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز

کشورهای پیشرفته به خود جلب نموده است (رجحان ۱۳۸۷). از این رو در بین محرک‌های ایمنی متعدد، محرک‌های ایمنی با منشاء گیاهی دارای ارجحیت می‌باشد (Iwama and Nakanishi 1996).

برگ‌های گیاه چای سبز حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات است (Amarowicz and Shahidi 1996)، چای سبز از برگ‌های گیاه *Camellia sinensis* تهیه می‌شود (نصیری‌راد و همکاران ۱۳۸۷). چای به دلیل داشتن ترکیبات مختلف، دارای اهمیت با اثر تغذیه‌ای و دارویی و تحریک‌کنندگی بالایی است و مهم‌ترین خواص آن ضدسرطان، ضدالتهابی، ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدان و ضدویروسی اشاره کرد (Weber et al. 2003). این گیاه دارای ترکیبات شیمیایی نظیر کافئین، پلی‌فنول‌ها، ویتامین C، ویتامین گروه B ($B_1$، $B_2$ و $B_6$)، اسیدهای آمینه (از جمله لیزین و پرولین)، کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی و آب (خدادادی ۱۳۶۹) و عناصر روی و منگنز و پتاسیم می‌باشد (Cabrera et al. 2006). کافئین با اثرگذاری بر روی سیستم دفاعی بدن توان مقابله با باکتری‌ها را داراست. مطالعات تغذیه‌ای نقش کلیدی برخی از مواد مغذی حاوی آنتی‌اکسیدان در سیستم ایمنی بدن ماهی را نشان می‌دهد. مواد مغذی دخیل مربوط به این سیستم شامل پروتئین‌ها، اسیدهای چرب ضروری، پلی‌ساکاریدها، ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان C و E، برخی مواد مؤثر مانند روی و سلنیوم می‌شود (Amar et al. 2004). از طرفی برجسته‌ترین مواد موجود در چای سبز پلی‌فنول‌ها می‌باشد، بسیاری از پلی‌فنول‌ها مانند کاتچین می‌تواند واکنش‌های ایمنی را با تعدیل واکنش‌های ضدالتهابی سیتوکینین‌ها و غیره و یا توسط مواد مؤثره فعال در سلول‌های سیستم ایمنی بدن را تنظیم کنند (Mir and Agrewala 2008). چای سبز به علت دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان یک مهارکننده عوامل ویروسی و باکتری‌ها عمل می‌کند (Etemadi et al. 2008). کاتچین‌های موجود در چای سبز به خصوص اپی گالو کاتچین گالات و گلیکوپروتئین موجود در آن سبب ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود (Ojagh et al. 2005) و وجود ویتامین C در چای سبز سبب عملکرد صحیح هتروفیل‌ها می‌شود (Babu 2007) و نیز ترکیبات اسیدآمینه (مانند لیزین و پرولین) موجود در چای سبز (خدادادی ۱۳۶۹) سبب ساخته شدن پروتئین‌های سلولی می‌گردد. از طرفی دیگر چای سبز حاوی گلیکوپروتئین و کربوهیدرات و همچنین حاوی ویتامین‌های گروه B ($B_6$, $B_1$, $B_2$) بوده که در تشکیل آنتی‌بادی مؤثراند (Babu 2007). هنگامی که اپی‌گالوکاتچین‌ها با ویتامین E در سطح تعادل قرار گیرند باعث بالا رفتن میزان لایزوزیم می‌شود (Boshra et al. 2006).

لازم به ذکر است که چای سبز مانند بسیاری از منابع پروتئینی گیاهی در بردارنده‌ی عوامل ضدتغذیه‌ای است که ممکن است عملکرد ماهی را محدود کند، عمده‌ترین عوامل ضدتغذیه‌ای عبارتند از: فیبر- الیگوساکاریدها- ترکیبات فنل‌دار- اسید فیتیک و گلوکز زینولات‌ها (Higgs et al. 1995). در این بین، فیبر از مواردی است که باعث افت کیفیت خوراک می‌گردد (شریعتی و قاضی‌شهنی‌زاده ۱۳۷۹) و عقیده بر این است که کاتچین‌ها که اجزای پلی‌فنولی چای هستند علاوه بر اثرات مفید ذکر شده، می‌توانند از طریق مهار تخریب نوراپی نفرین موجب شوند که چای گرما تولید نماید و این اثر کاتچین‌ها، اکسایش را در میتوکندری‌ها افزایش و تولید همزمان ATP را کاهش می‌دهند و به این وسیله گرما تولید می‌کنند، مکانیسم دیگر این است که کاتچین‌ها ممکن است ایجاد عروق و بافت چربی را مهار کند (Diepvens et al. 2007). همچنین گمان می‌رود که افزایش مصرف انرژی با میزان کافئین موجود در این گیاه ارتباط دارد.

مطالعات متعددی در رابطه با اثر مشتقات چای سبز بر روی ماهیان متفاوت انجام گردیده که اغلب سبب بهبود شرایط ایمنی و بیوشیمیایی وخونی در آن‌ها گردیده است. از جمله این بررسی‌ها می‌توان به تحقیقات مختلفی که شامل، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Cristea et al. 2012, Sheikhzadeh et al. 2011)، کفشک زیتونی (Cho et al.

*Oreochromis niloticus* (Abdel-Tawwab et al. 2007)، هامور (Harikrishnan et al. 2011) اشاره کرد.

همچنین با مروری بر مطالعات انجام شده در زمینه‌ی فیتوبیوتیک‌ها به نظر می‌رسد استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک‌های ایمنی جایگزین مناسبی برای آنتی-بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و ترکیبات سنتزی باشند (Ardo et al. 2008). به گونه‌ای که بسیاری از محققین تأثیر مواد فیتوبیوتیک مختلف از جمله سیر (Sahu et al. 2006)، دارچین (مورکی و همکاران ۱۳۹۱)، لوامیزول (علیشاهی و همکاران ۱۳۹۱)، ارگوسان (Bagni et al. 2005)، دارواش و گزنه و زنجبیل (Dugenci et al. 2003) و غیره را بر روی گونه‌های مختلف ماهیان را بررسی کرده و شاهد تأثیرگذاری مثبت و بالا بردن سطح ایمنی در بدن ماهیان مختلف توسط گیاهان دارویی شده است. بنابراین با توجه به اهمیت فاکتورهای ایمنی در بررسی حاضر سعی شد بهترین میزان مورد استفاده از پودر چای سبز جهت کارایی مناسب و اثربخشی آن به عنوان محرک ایمنی در ماهی کپور پرورشی معرفی گردد.

## مواد و روش کار

این بررسی در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز به مدت ۴۵ روز انجام شد. در مراحل انجام کار پارامترهای آب شامل اسیدیته، دما و اکسیژن روزانه توسط دستگاه مولتی متر Az instrument مدل ۸۶۰۳ و شوری آب توسط شوری سنج مدل ۸۳۷۱ به صورت روزانه ثبت شد. به منظور طراحی و آماده‌سازی مکان تحقیق ۱۲ عدد تانک یکسان و مشابه با حجم ۳۰۰ لیتر در قالب ۴ تیمار با ۳ تکرار و هر تانک ۳۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۱±۲۲ گرمی تقسیم‌بندی گردیدند. بعد از تیماربندی و سازگاری ماهیان غذادهی ۳ بار در طول روز به طور دستی و با توجه به شرایط روشنایی روز انجام گرفت. در طول دوره‌ی پرورشی جهت تغذیه تیمارها از ۴ نوع جیره غذایی : تیمار ۱ (شاهد)، تیمار ۲ (۱/۵ درصد)، تیمار ۳ (۳ درصد) و تیمار ۴ (۵ درصد ) استفاده گردید (Cho et al. 2007) و همچنین به منظور متعادل کردن سطح انرژی و سایر ترکیبات جیره به هنگام افزودن پودر چای سبز به جیره‌ی پایه از سبوس گندم (یک بایندر فاقد انرژی) استفاده گردید. جیره‌های آماده شده از نظر سطح انرژی یکسان بودند (Lee et al. 2000).

در طول دوره‌ی پرورش به منظور تغذیه‌ی تیمارها از ۴ نوع جیره‌ی متفاوت به شرح زیر استفاده گردید:

تیمار ۱ : جیره‌ی پایه‌ی آزمایشی بدون افزودن پودر چای سبز (به منظور یکسان نمودن سطح انرژی ترکیبات به تیمار شاهد ۵۰ گرم سبوس گندم اضافه گردید).

تیمار ۲: جیره‌ی پایه آزمایشی به همراه ۱/۵ درصد پودر چای سبز (۱۵گرم ) + ۳۵ گرم سبوس گندم در هر کیلوگرم از جیره.

تیمار ۳: جیره‌ی پایه‌ی آزمایشی به همراه ۳ درصد پودر چای سبز (۳۰گرم ) + ۲۰گرم سبوس گندم در هر کیلوگرم از جیره.

تیمار ۴: جیره‌ی پایه‌ی آزمایشی به همراه ۵ درصد پودر چای سبز (۵۰ گرم ) و بدون سبوس گندم در هر کیلوگرم از جیره.

به این ترتیب در ابتدا هر یک از اجزای جیره ۳ بار آسیاب شده و با الک با چشمه‌ی بسیار ریز عبور داده شد تا پودر صاف و یکدستی درست شود (سپس هر یک از تیمارها به همراه آب به شکل خمیر درآمده و با چرخ گوشتی به شکل رشته درآمده و پس از خشک شدن به صورت جداگانه نگهداری گردید) همچنین به منظور حفظ کیفیت غذای مصرفی، جیره‌ها هر دو هفته یک بار تهیه گردیده‌اند (مورکی و همکاران ۱۳۹۱ ). ترکیب شیمیایی جیره‌ی مورد استفاده در طول دوره‌ی پرورشی در جدول ۱ آمده است.

**جدول ۱: ترکیب شیمیایی جیره‌ی مورد استفاده در طول دوره‌ی پرورش**

| | چربی خام ٪ | پروتئین خام ٪ | خاکستر ٪ | رطوبت ٪ | فیبر خام ٪ |
|---|---|---|---|---|---|
| تیمار شاهد (بدون پودر چای سبز) | ۱۱/۶۲ | ۳۴/۲۵ | ۲/۶۳ | ۱۲/۱۹ | ۴/۱۶ |
| تیمار ۲ (۱/۵ ٪ پودر چای سبز) | ۱۱/۴۹ | ۳۵/۷۵ | ۲/۹۴ | ۱۲/۰۸ | ۴/۹۱ |
| تیمار ۳ (۳ ٪ پودر چای سبز) | ۱۱/۵۵ | ۳۵/۳۷ | ۲/۷۹ | ۱۲/۲۳ | ۵ |
| تیمار ۴ (۵ ٪ پودر چای سبز) | ۱۲/۳۳ | ۳۵/۲۹ | ۳ | ۱۲/۱۲ | ۵/۰۹ |

عملیات زیست‌سنجی ۲ بار در طول کل دوره انجام گرفت، مرحله‌ی ابتدایی زیست‌سنجی در آغاز بررسی و مرحله‌ی دوم زیست‌سنجی در پایان دوره (۴۵ روزه) انجام گرفت.

جهت انجام خون‌گیری از ۲۴ ساعت قبل غذادهی به منظور جلوگیری از بروز استرس قطع گردید. در نتیجه از هر تانک ۵ عدد ماهی به صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری از ناحیه‌ی ساقه‌ی دمی انجام شد. خون جمع‌آوری شده به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۴۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پس از تفکیک سرم از سلول‌های خونی، سرم جداسازی شده و به میکروتیوب‌های دیگری منتقل شدند و تحت شرایط سرما و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا انجام آزمایش‌های نهایی نگهداری شدند (Banaee et al. 2011). به منظور شمارش افتراقی گلبول‌های سفید ابتدا از خون گسترش مناسب تهیه شد، پس از تهیه گسترش مناسب از خون، گسترش‌ها به وسیله‌ی متانول فیکس شده و سپس به همراه رنگ گیمسا به مدت ۲۰ دقیقه رنگ-آمیزی شدند. پس از پایان رنگ‌آمیزی و شستشوی لام و خشک شدن گسترش تهیه شده با بزرگنمایی عدسی ۱۰۰ میکروسکوپ نوری و به همراه روغن ایمرسیون بررسی شد. در هر گسترش ۱۰۰ عدد گلبول سفید شمارش و به درصد بیان گردید (Thrall 2004). برای اندازه‌گیری پروتئین تام با استفاده از کیت آزمایشگاهی زیست شیمی و به روش بیوره انجام شد، جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت لایزوزیم سرم از روش کدورت‌سنجی (Ellis 1998)، استفاده گردید. در این روش ابتدا سرم با سوسپانسیون ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر باکتری *میکروکوکوس لیزوداکتیکوس* (سیگما ) در بافر ۰/۰۲ مولار سدیم سیترات (pH=۵/۸) در گوده‌های پلیت الایزا با نسبت ۱:۱۰ مخلوط گردید و جذب نوری آن‌ها در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد اتاق در زمان‌های ۰ و ۶۰ دقیقه بعد از مخلوط‌سازی در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم لیزوزیم باعث تخریب باکتری و کاهش جذب نوری گردید. میزان فعالیت لیزوزیم سفیده‌ی تخم مرغ سیگما تعیین گردید. آلبومین نیز با استفاده از کیت آزمایشگاهی زیست شیمی و به روش Beradford در سال ۱۹۷۶ مورد سنجش قرار گرفت. جهت تعیین ایمنوگلوبولین سرم با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر مدل یورولایزر ساخت کشور اتریش استفاده گردید. غلظت ایمنوگلوبولین تام بر اساس روش شرح داده شده توسط Siwicki و Anderson در سال ۱۹۹۳ اندازه‌گیری شد. ابتدا پروتئین تام سرم اندازه‌گیری می‌گردد و سپس ایمنوگلوبولین سرم به روش ترسیب نمکی رسوب داده شده و میزان پروتئین مایع رویی اندازه‌گیری گردید. نهایتاً میزان ایمنوگلوبولین تام سرم با تفریق پروتئین مایع رویی از پروتئین تام محاسبه شد (Siwicki and Anderson 1993).

گلوبولین تام پلاسما=پروتئین تام پلاسما–آلبومین تام پلاسما

برای آنالیز آماری نتایج تحقیق از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ استفاده گردید. برای مقایسه‌ی میانگین‌ها در بین تیمارها و نیز معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌ها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و تست تکمیلی

دانکن در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ استفاده شد. کلیه‌ی نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

## نتایج

نتایج بررسی‌های ایمنولوژیک نمونه‌های اخذ شده از تیمارهای مختلف در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که پروتئین تام، ایمنوگلوبین در سطح ۱/۵ درصد بیش‌ترین میزان را داشته‌اند. فاکتورهای پروتئین تام و ایمنوگلوبین در تیمار ۱/۵ درصد اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد ($P<۰/۰۵$). لایزوزیم در تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P<۰/۰۵$) به گونه‌ای که بیش‌ترین میزان در تیمار ۱/۵ درصد مشاهده شد. بیش‌ترین میزان آلبومین در تیمارهای مختلف مورد آزمایش در طی دوره‌ی پرورشی مربوط به تیمار ۱/۵ درصد پودر چای سبز بود ولی در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$).

**جدول ۲: برخی از فاکتورهای مرتبط با ایمنی ماهیان کپور معمولی در طی ۴۵ روز دوره‌ی پرورش متعاقب افزودن سطوح مختلف برگ چای سبز به جیره**

| فاکتورهای ایمنی | تیمار ۱ (شاهد) | تیمار ۲ (٪ ۱/۵) | تیمار ۳ (٪ ۳) | تیمار ۴ (٪ ۵) |
|---|---|---|---|---|
| هتروفیل (٪) | ۲۷/۶۷±۱/۲۲$^{a}$ | ۲۹/۶۷±۱/۰۹$^{b}$ | ۲۹/۵۳±۱/۲۶$^{b}$ | ۳۰/۰۷±۱/۳۳$^{b}$ |
| لنفوسیت (٪) | ۷۰/۸۷±۱/۰۶$^{b}$ | ۶۹/۶۷±۱/۱۸$^{ab}$ | ۶۹/۴۷±۱/۱۴$^{ab}$ | ۶۹/۰۷±۱/۰۳$^{a}$ |
| مونوسیت (٪) | ۰/۸۳±۰/۰۷$^{a}$ | ۰/۶۷±۰/۰۹$^{a}$ | ۰/۷۹±۰/۱۲$^{a}$ | ۰/۶۹±۰/۱۰$^{a}$ |
| پروتئین تام (گرم در دسی لیتر) | ۴/۰۹±۰/۵۳$^{a}$ | ۴/۸۹±۰/۴۸$^{b}$ | ۴/۰۱±۰/۶۵$^{a}$ | ۳/۸۵±۰/۴۸$^{a}$ |
| ایمنوگلوبین (گرم در دسی لیتر) | ۲/۶۱±۰/۴۰$^{a}$ | ۳/۳۵±۰/۵۲$^{b}$ | ۲/۵۵±۰/۴۷$^{a}$ | ۲/۵۶±۰/۳۱$^{a}$ |
| آلبومین (گرم در دسی لیتر) | ۱/۴۰±۰/۲۳$^{a}$ | ۱/۵۰±۰/۴۶$^{a}$ | ۱/۴۵±۰/۳۲$^{a}$ | ۱/۳۵±۰/۲۳$^{a}$ |
| لایزوزیم (واحد در میلی‌لیتر در دقیقه) | ۱۱۷/۶۷±۱۰/۳۲$^{a}$ | ۱۳۵/۶۷±۱۵/۳۳$^{b}$ | ۱۲۸/۷۳±۹/۸۰$^{b}$ | ۱۲۸/۸۷±۱۵/۸۱$^{b}$ |

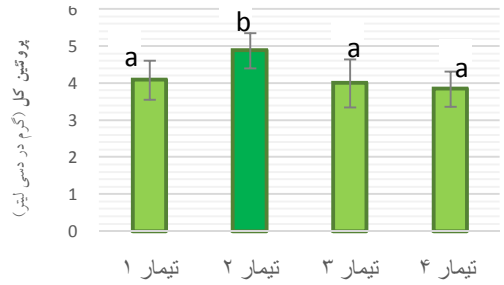
ردیف‌های دارای حروف همنام لاتین از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ($P>۰/۰۵$).

میزان درصد هتروفیل در تیمارهای مختلف در طی دوره‌ی پرورش ۴۵ روزه در جدول ۳ آورده شده است. استفاده از پودر چای سبز سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد گردیده است ($P<۰/۰۵$). بیش‌ترین میزان هتروفیل در تیمار ۱/۵ درصد پودر چای سبز بوده است در صورتی که کم‌ترین میزان آن در تیمار شاهد ثبت گردید.

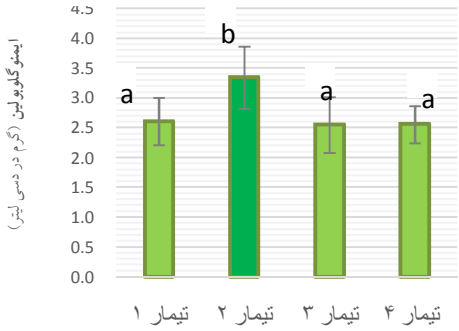
تجویز خوراکی پودر چای سبز باعث تغییر میزان درصد لنفوسیت گردید و اختلاف معنی‌داری ایجاد کرد ($P<۰/۰۵$). کم‌ترین میزان مربوط به تیمار حاوی ۵ درصد پودر چای سبز بوده ولی بیش‌ترین میزان آن در تیمار شاهد دیده شده است.

استفاده از پودر چای سبز سبب تغییر در میزان درصد منوسیت گردید، به صورتی که بیش‌ترین میزان آن در تیمار شاهد و کم‌ترین آن در تیمار ۱/۵ درصد پودر چای سبز بوده است. اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید ($P>۰/۰۵$).

میزان پروتئین تام و ایمنوگلوبولین در گروه‌های تغذیه شده با پودر چای سبز تیمار ۱/۵ درصد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری ایجاد کرد ($P<۰/۰۵$). به گونه‌ای که در هر دو فاکتور بیش‌ترین میزان در تیمار ۱/۵ درصد بوده و کم‌ترین میزان آن به ترتیب در تیمار ۵ درصد و تیمار ۳ درصد پودر چای سبز بوده است (نمودار ۱ و ۲).

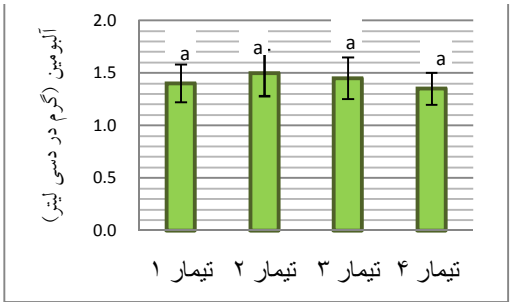



**نمودار ۱: مقایسه پروتئین تام خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش داده شده در تیمارهای پودر چای سبز در طی ۴۵ روزه دوره‌ی پرورشی، تابستان و پاییز ۱۳۹۳**



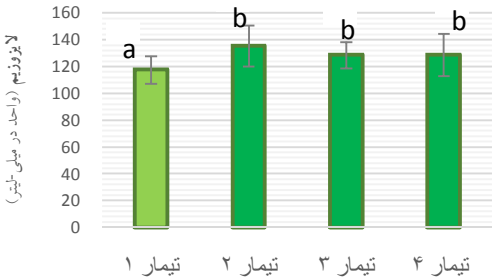

**نمودار ۲: مقایسه ایمنوگلوبولین خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش داده شده در تیمارهای پودر چای سبز در طی ۴۵ روزه دوره‌ی پرورشی، تابستان و پاییز ۱۳۹۳**

میزان آلبومین با تجویز خوراکی پودر چای سبز در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را سبب نشد (P>۰/۰۵). ولی تغییری در میزان آن مشاهده شد به گونه‌ای که بیش‌ترین میزان آن در تیمار ۱/۵ درصد و کم‌ترین آن در تیمار ۵ درصد مشاهده گردید (نمودار ۳).




**نمودار ۳: مقایسه‌ی آلبومین خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش داده شده در تیمارهای پودر چای سبز در طی ۴۵ روزه دوره‌ی پرورشی، تابستان و پاییز ۱۳۹۳**

میزان لایزوزیم در اثر تجویز خوراکی پودر چای سبز با تیمارهای تغذیه شده با پودر چای سبز اختلاف معنی-داری با گروه شاهد ایجاد کردند (P<۰/۰۵). به گونه‌ای که بیش‌ترین میزان لیزوزیم در تیمار ۱/۵ درصد و کم‌ترین میزان آن در تیمار شاهد مشاهده گردید (نمودار ۴).




**نمودار ۴: مقایسه لایزوزیم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش داده شده در تیمارهای پودر چای سبز در طی ۴۵ روزه دوره‌ی پرورشی، تابستان و پاییز ۱۳۹۳**

## بحث

در صنعت آبزی‌پروری عوامل بیماری‌زا از عوامل کاهش‌دهنده‌ی تولید می‌باشد و اختلال در سیستم ایمنی ماهیان به واسطه‌ی عوامل استرس‌زای محیطی، منجر به حساسیت بیش‌تر به انواع بیماری‌ها می‌شود که توسعه‌ی اقتصادی آبزی‌پروری را محدود می‌نماید. برای حل این مشکل امروزه از مکمل‌های غذایی به عنوان محرک‌های سیستم ایمنی به منظور افزایش رشد و بالا بردن توان ایمنی بدن ماهی و هم‌چنین افزایش سلامت و مقاومت آن‌ها نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا که می‌توانند مفید واقع شوند مد نظر قرار گرفته است (اکرمی و همکاران ۱۳۸۷). از آن جایی که برخی گیاهان دارویی دارای طیف وسیعی از خواص مفید از جمله تحریک و تقویت سیستم ایمنی هستند و سبب شده که استفاده از آن‌ها در مزارع پرورش ماهی باعث بهبود تولید گردد. به این ترتیب در آبزی‌پروری پایدار یکی از امیدوارکننده‌ترین روش‌های تقویت سیستم دفاعی، مدیریت بیماری است که از طریق تجویز مواد محرک ایمنی به صورت خوراکی

صورت می‌گیرد که به دلیل ایده‌آل بودن شرایط به دور از استرس این امکان را فراهم می‌کند تا تعداد زیادی از ماهیان با حداقل هزینه و فعالیت‌های جانبی تحت درمان قرار بگیرند. پیشرفت‌های اخیر در مطالعه‌ی مواد غذایی محرک ایمنی نشان داده است که برخی مواد غذایی به وضعیت ایمنی ماهی مربوط می‌شود. این امر توجه متخصصین تغذیه ماهی را به تأمین ایمنی ماهی علاوه بر رشد ماهی جلب کرده است به گونه‌ای که آبزی‌پروری پایدار به تعادل کامل بین شرایط رشد و سلامت ماهی وابسته است و مطالعات نشان داده که محرک‌های ایمنی گیاهی قادر به افزایش مکانیسم دفاع غیراختصاصی و اختصاصی و کاهش تلفات ناشی از ویروس و باکتری و عفونت‌های انگلی در ماهیان شدند (Allsopp et al. 2008). این گروه از افزودنی‌هایی که مورد توجه قرار گرفته‌اند فیتوبیوتیک‌ها بوده که جزو ترکیبات گیاهی هستند و ترکیبات طبیعی آن‌ها (مانند ترکیبات فنلی و فلاوانوئید) به جیره‌ی غذایی افزوده شده و در نهایت منجر به تأثیرگذاری بر روی ارگانیسم‌ها می‌شوند (Cristea et al. 2012). چای سبز ارزش غذایی و دامنه‌ی وسیعی از درمان از جمله افزایش ایمنی غیراختصاصی بدن نشان می‌دهد. چای سبز حاوی کافئین، کاتچین، پلی فنول، ویتامین‌های گروه B، C و E، فلاوانوئید، گلیکوپروتئین، فیبر، لیپید و کارتنوئیدها بوده، همچنین در سال‌های اخیر مورد مطالعه و بررسی محققان قرار گرفته و اثرات مختلف آن اعم آنتی‌کارسینوژنیک، اثرات ضد التهابی، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی به عنوان یک فیتوبیوتیک مورد شناسایی قرارگرفته است؛ به گونه‌ای که افرادی از جمله Sheikhzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۱، Abdel-Tawwab و همکاران در سال ۲۰۱۰، Cristea و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی تأثیر چای سبز بر روی سیستم ایمنی ماهیان پرداختند، مشاهده کردند که چای سبز دارای اثرات بهبودی در شاخص‌های ایمنی مورد سنجش در گروه‌های تغذیه شده با این ماده، نسبت به گروه شاهد شده است.

شمارش کلی گلبول‌های سفید کمک مهمی در تشخیص حالات فیزیولوژیک و پاتولوژیک حیوان می‌نماید. با توجه به نتایج موجود در جدول ۳ میزان هتروفیل در گروه‌های تغذیه شده با پودر چای سبز افزایش معنی‌داری را با گروه شاهد ایجاد کرده است ($P<0/05$)، که بیش‌ترین مقدار آن مربوط به تیمار ۵ درصد به میزان ۱/۳۳±۳۰/۰۷ بوده است. هتروفیل‌ها دارای خاصیت فاگوسیتوز کنندگی بوده و سبب ایمنی در برابر بیماری‌های باکتریایی می‌شود. هتروفیل‌ها اولین سلول‌های خونی جهت مبارزه با عوامل عفونی هستند (قاسمی پیر بلوطی و همکاران ۱۳۹۰) و چنین به نظر می‌رسد که جیره‌ی حاوی چای سبز به علت وجود ویتامین C که برای عملکرد صحیح هتروفیل‌ها مورد نیاز است (Babu 2007) توانسته سبب افزایش معنی‌دار میزان هتروفیل در تیمارهای تغذیه شده با پودر چای سبز گردد. البته لازم به ذکر است که در دوره‌ی پرورشی ماهیان درگیر هیچ‌گونه بیماری عفونی نگردیده‌اند. در حالی که میزان لنفوسیت در گروه‌های تغذیه شده با پودر چای سبز کاهش معنی‌داری را با گروه شاهد داشته است. لنفوسیت‌ها معمولاً در مقابله با بیماری‌های ویروسی کاربرد و در دفاع اختصاصی نقش دارند (Ellis 1998). به این ترتیب با توجه به اثرگذاری چای سبز در افزایش هتروفیل و کاهش لنفوسیت‌ها به نظر می‌رسد که چای سبز بر روی ایمنی غیراختصاصی مؤثر بوده و توان تحریک ایمنی اختصاصی را ندارد. بر این اساس Harikrishnan و همکاران در سال ۲۰۱۱ به بررسی تأثیر رژیم غذایی غنی شده با چای سبز و تأثیر آن بر روی ایمنی ذاتی هومورال و پاسخ ایمنی سلولی در ماهی هامور کلپ آلوده به *ویبریو کارچاریاه* پرداختند و مشاهده کردند که اضافه کردن چای سبز در غلظت ۰/۰۱ و ۰/۱ درصد اثر مثبتی بر روی افزایش پاسخ ایمنی هومورال و سلول‌های غیراختصاصی و مقاومت در برابر بیماری در طی هفته‌های ۲ و ۴ را ایجاد می‌کند. در عین حال اثر مثبتی بر روی میزان ایمنی اختصاصی نداشته و به این ترتیب با

نتایج حاصل از این بررسی به صورت کلی مشابه بوده است، که به دلیل نوع تغذیه‌ی ماهی کپور در مقابل ماهی هامور باشد چرا که اساساً ماهی کپور همه چیز خوار بوده و از منابع گیاهی حاوی مقادیر بالای کربوهیدرات بهتر می‌تواند بهره ببرد و از طرفی دیگر نتیجه‌ی تحقیقات قاسمی‌پیربلوطی و همکاران در سال ۱۳۹۰ بر روی اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus myksis*)، با بررسی حاضر مغایرت دارد.

سنجش سطح پروتئین‌های سرم خون شاخص مناسبی برای وضعیت ایمنی‌شناسی ماهی می‌باشد. در بررسی انجام شده میزان پروتئین تام سرم خون در تیمار ۲ تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف دریافت‌کننده‌ی پودر چای سبز نشان داده است و به میزان ۰/۴۸±۴/۸۹ بوده است. در ساختار پروتئین‌های سلولی اسیدهای آمینه نقش اصلی را ایفا می‌کنند و به دلیل ترکیبات اسیدآمینه (مانند لیزین و پرولین) موجود در چای سبز (خدادادی ۱۳۶۹) سبب ساخته شدن پروتئین‌های سلولی گردیده است. ولی به نظر می‌رسد میزان بیش‌تر از ۱/۵ درصد پودر چای سبز روند رو به کاهشی را ایجاد کرده که می‌تواند به علت بر هم خوردن تعادل بین اسیدهای آمینه موجود در جیره و به تبع آن مانع مکانیسم پروتئین‌سازی سلولی گردد. در مطالعاتی که توسط علیشاهی و همکاران در سال ۱۳۹۰ به بررسی خوراکی عصاره‌ی خار مریم (*Silybum marianum*) بر پاسخ ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و همچنین Dugenci و همکاران در سال ۲۰۰۳ که به بررسی اثرات چندگونه گیاه دارویی بر سطح ایمنی ماهی قزل‌آلا پرداختند سبب افزایش پروتئین تام در مواجه با محرک‌های ایمنی گردیده است و Harikrishnan و همکاران در سال ۲۰۱۱ به بررسی تأثیر رژیم غذایی حاوی چای سبز با سطوح ۰، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ درصد غنی سازی شده پرداخته که در نتیجه‌ی آن فعالیت آنتی پروتئاز سرم به طرز معنی‌داری در گروه تغذیه شده با ۱ درصد چای سبز از هفته‌ی ۱ تا ۴ افزایش یافت، Nootash و همکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی تأثیر رژیم غذایی حاوی چای سبز بر روی ژن‌های سلول‌های ایمنی و فاکتورهای بیوشیمیایی در ماهی قزل آلای رنگین کمان پرداختند که در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین تام اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد که با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد.

ایمنوگلوبولین وظایف دفاعی موجودات در مقابل آنتی‌ژن‌ها را بر عهده دارند و همین طور دارای فعالیت پادتنی بوده که با عوامل بیماری‌زا می‌تواند مقابله کند. ایمنوگلوبولین که در ارتباط مستقیم با لنفوسیت‌های B بوده و در پاسخ به عوامل خارجی و درنتیجه ورود آنتی-ژن‌ها به بدن ایجاد می‌شود (Yim et al. 2001). آن‌ها جزو گلیکوپروتئین‌ها بوده و در ساختارشان کربوهیدرات و گلیکوپروتئین وجود دارد. از آن جایی که چای سبز حاوی گلیکوپروتئین و کربوهیدرات است و از سویی دیگر حاوی ویتامین B ($B_6$, $B_2$, $B_1$) است که در تشکیل آنتی‌بادی مؤثر بوده (Babu 2007)، سبب شده است که در این بررسی میزان ایمنوگلوبولین در تیمار ۲ که حاوی ۱/۵ درصد پودر چای سبز بوده اختلاف معنی‌داری به میزان ۰/۵۲±۳/۳۵ را با سایر تیمارهای مورد آزمایش نشان دهد ($P<0/05$). نجف‌پورمقدم و همکاران در سال ۱۳۹۲، تأثیر عصاره‌ی خوراکی گیاه دارویی سرخار گل (*Echinacea purpurea*) بر روی برخی از فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) انجام داده‌اند که با نتایج این بررسی مطابقت داشته است.

آلبومین یکی از پروتئین‌های مهم بدن می‌باشد (Yim et al. 2001) و ملاکی برای تعیین سلامت و وضعیت تغذیه و عملکرد کبد می‌باشد. در بررسی پودر چای سبز میزان آلبومین در تیمارهای مورد آزمایش هیچ گونه اختلاف معنی‌داری ایجاد نشده است ($P>0/05$). البته تغییراتی در میزان آن مشاهده گردید به صورتی که بیش-ترین میزان آن مربوط به تیمار ۱/۵ درصد به میزان ۰/۴۶±۱/۵۰ بوده است. نتیجه‌ی به دست آمده با تحقیقی

که توسط قاسمی‌پیربلوطی و همکاران در سال ۱۳۹۰ تأثیر سه گیاه آویشن و مرزه‌ی خوزستانی و پونه‌ی کوهی را بر روی فاکتورهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند، مطابقت دارد.

لیزوزیم شاخص عملکرد ایمنی غیراختصاصی در ماهی بوده و به عنوان یک آنزیم است که از گلبول‌های سفید آزاد شده و در تشکیل آنتی‌بادی‌ها نقش دارد (Iwama and Nakanishi 1996). در این بررسی میزان لیزوزیم در تیمارهای تغذیه شده با پودر چای سبز افزایش معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵) و بیش-ترین مقدار آن مربوط به تیمار ۱/۵ درصد به میزان ۱۳۵/۶۷±۱۵/۳۳ بوده است. در مطالعاتی دیگر که توسط Harikrishnan و همکاران در سال ۲۰۱۱ تأثیر رژیم غذایی غنی شده با چای سبز با سطوح مختلف در ماهی هامور را بررسی و مشاهده نمودند که در تمام تیمارهای غنی شده با چای سبز فعالیت لیزوزیم سرم از هفته ۱ تا ۴ رو به افزایش بود، همچنین Pratheepa و همکاران در سال ۲۰۱۰ که به بررسی تأثیر برگ گیاه (*Aegle marmelos*) بر روی ماهی کپور معمولی پرداختند که نتایج سایر محققین با این بررسی مطابقت دارد. به این ترتیب چای سبز به علت دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان یک مهارکننده‌ی عوامل ویروسی و باکتری‌ها عمل کرده است (Etemadi et al. 2008). کاتچین‌های موجود در چای سبز به خصوص اپی گالو کاتچین گالات و گلیکوپروتئین موجود در آن سبب ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن گردیده‌اند (Ojagh et al. 2005) و هنگامی‌که با ویتامین E در سطح تعادل قرار گیرند باعث بالا رفتن میزان لایزوزیم می‌شود (Boshra et al. 2006)، از سویی دیگر ویتامین B ($B_6$, $B_2$, $B_1$) با اثرگذاری بر روی گلبول‌های سفید و تشکیل آنتی‌بادی‌ها سبب کارایی بهتر و افزایش فعالیت لیزوزیم (Babu 2007) متأثر از چای سبز شده است.

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که بالاترین میزان فاکتورهای ایمنی در تیمار تغذیه شده با پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد بوده است (P<۰/۰۵). لذا چنین به نظر می‌رسد که پودر چای سبز باعث افزایش عملکرد ایمنی ماهی کپور معمولی در مقایسه با گروه شاهد گردیده است. به این ترتیب از جمله سازوکارهایی که برای عملکرد چای سبز جهت افزایش سطح ایمنی غیراختصاصی مطرح است، اثربخشی مثبت پلی فنول‌ها، کاتچین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و در نهایت ویتامین‌ها با خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن مربوط است. علت اثربخشی چای سبز در این بررسی در سطح ۱/۵ درصد با توان تأثیرگذاری آن در این غلظت از چای سبز در ارتباط است، چرا که چای سبز در غلظت پایین می-تواند به طور مطلوب باعث افزایش کارایی سیستم ایمنی شود و بالا رفتن از این مقدار می‌تواند نتیجه‌ی معکوس در پی داشته باشد (Cristea et al. 2012).

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همکاری مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز در فراهم نمودن شرایط انجام پایان‌نامه تشکر و قدردانی نموده و همچنین از همکاری رییس وقت دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی و ریاست وقت مرکز تکثیر واحد اهواز در انجام پایان‌نامه صمیمانه تشکر می‌نمایند.

## منابع

اکرمی، رضا؛ قلیچی، افشین و منوچهری، حامد (۱۳۸۸). تأثیر اینولین به عنوان پروبیوتیک بر عملکرد رشد و زنده‌مانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، پژوهش‌های مجله علوم و فنون دریایی، صفحات ۸۶- ۹۰.

خدادادی، رحیم (۱۳۶۹)، چای، انتشارات دانشگاه تهران، ۹-۳.

رجحان، محمدصادق (۱۳۸۷ ). دارو و درمان گیاهی، انتشارات فرهیختگان علوی، چاپ پنجم، صفحه ۲۸۷.

شریعتی، شهاب و قاضی‌شهنی‌زاده، پوران (۱۳۷۹). کلزا، چاپ اول، انتشارات نشر آزمون کشاورزی، صفحه ۸۱.

علیشاهی، مجتبی؛ سلطانی، مهدی؛ مصباح، مهرزاد و اسمعیلی‌راد، امین (۱۳۹۰ ). تأثیر تجویز خوراکی عصاره خار مریم (*Silybum marianum*) بر پاسخ ایمنی کپور معمولی، مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۶، شماره۳، صفحات ۲۵۵-۲۶۳.

علیشاهی، مجتبی؛ سلطانی، مهدی؛ مصباح، مهرزاد و زرگر، اشکان (۱۳۹۱). اثرات ایمنی و رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی کپور معمولی (*Cyprinus Carpio*)، مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۷، شماره ۲، صفحات ۱۴۲-۱۳۵.

قاسمی‌پیربلوطی، عبداله؛ پیرعلی، اسماعیل؛ پیشکار، غلامرضا؛ جلالی، سیدمحمدعلی؛ رئیسی، مهدی؛ جعفریان‌ده‌کردی، محسن و حامدی، بهزاد (۱۳۹۰). اثر اسانس گیاهان دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، فصلنامه داروهای گیاهی، شماره ۲، صفحات ۱۵۵-۱۴۹.

مورکی، نرگس؛ روزی، یونس؛ ذریه‌زهرا، جلال؛ صافی، شهاب‌الدین (۱۳۹۱). بررسی اثر کاربرد پودر دارچین به عنوان مکمل رشد در جیره غذایی ماهی گرین ترور (*Andinocara rivulatus*) بر شاخص‌های هماتولوژی، اولین کنفرانس ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار در بخش‌های کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست، تهران، ایران.

نجف‌پور مقدم، سیده مریم، سلاطی، امیرپرویز، کیوان-شکوه، سعید، یاوری، وحید، زانوسی، حسین‌پاشا، (۱۳۹۲). تأثیر عصاره گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر برخی فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)، هشتمین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران و دومین سمپوزیوم لنگش در نشخوارکنندگان و اهمیت اقتصادی آن بر تولیدات دامی، شیراز، ایران.

نصیری‌راد، رضا؛ حدادخداپرست، محمدحسین؛ الهامی‌راد، امیرحسین و روفیگری‌حقیقت، شیوا (۱۳۸۷). بررسی تغییرات میزان کل ترکیبات فنولیک در چای سبز ایرانی دم آوری شده، هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، مشهد مقدس.

Abdel-tawwab, M.; Ahmad, M.H.; Seden, M.E.A. and Saker, S.F.M. (2010). Use of green tea, *Camellia sinensis* L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. Journal of the World Aquaculture Society, 41, 203-213.

Amar, E.C.; Kiron, V.; Satoh, S. and Watanabe, T. (2004). Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Fish and Shellfish Immunology; 16: 527-537.

Amarowicz, R. and Shahidi, F. (1996). A rapid chromatographic method for separation of individual catechins for green tea. Food Research International, 29: 71-76.

Ardo, L.; Yin, G.; Xu, O.; Varadi, L.; Szigeti, G.; Jeney, Z. and Jeney, G. (2008). Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture. 275: 26-33.

Babu, PVA.; Sabitha, K.E.; Srinivasan, P. and Shyamaladevi, C.S. (2007). Green tea attenuates diabetes induced Maillard- type fluorensece and collagen cross-linking in the heart of strepozotocin diabeticrats. Pharmacological Research, 55: 433-440.

Bagni, M.; Romano, N.; Finoia, M.G.; Abelli, L.; Scapigliati, G. and Tiscar, P.G. et al. (2005). Short and long effect of dietary yeast β-glucan and aliginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentraachus labrax*). Fish and Shellfish Immunology 18, 311-325.

Banaee, M.; Sureda, A.; Mirvagefii, A.R. and Rafei, G.R. (2004). Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus myksiss*), Fish Physiol Biochem, 37 (4): 885-876.

Beradford, M.M. (1976). A Rapid and sensitive method for the qwantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dyebinding. Analytic Biochemistry. 72: 248-254.

Boshra, H.; Li. J. and Sunyer, J.O. (2006). Recent advances on the complement system of teleost fish. Fish and Shellfish immunology, 20: 14-20.

Cabrera, C.; Artacho, R. and Gimenez, R. (2006). Beneficial effects of green tea – a review, Journal of the American College of Nutrition, 25(2): 79-99.

Cho, SH.; Lee, S.M.; Park, BH.; Ji, S.C; Lee, J.; Bae, J. et al. (2007). Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Fish Physiology Biochemistry. 33: 49-57.

Cristea, V.; Antache, A.; Grecu, I.; Docan, A.; Dediu, L. and Mocanu, M.C. (2012). The use Of phytobiotics In Aquaculture- University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Iasi. Pp: 250-255.

Diepvens, K.; Westerterp, K.R. and Westerterp-Plantenga, M.S. (2007). Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. American Journal of Physiology_ Regulatory. Integrative and Comparative Physiology. 292: R77-85.

Dugenci, S.K.; Arda, N. and Candan, A. (2003). Some medicinal plants as immune stimulants for fish, Journal of Ethnopharamacology., 88: 99-106.

Ellis, A.E. (1998). The immunology of teleosts. In: Fish pathology. 135-152.

Etemadi, H.; Rezaei, M.; Abedian, Kenary, A.M. (2008). Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Food Science and Technology, 5: 67-77.

Harikrishnan, R.; Balasundaram, C. and Heo, M.S. (2011). Influence of diet enriched With green tea on innate humoral and cellular immune response of kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) to *Vibrio carchariae* infection. *Fish and Shellfish Immunology,* 30, 972-979.

Higgs, D.A.; Dosanjh, B.S.; Prendergast, A.F.; Beames, R.M.; Hardy, R.W.; Riley, W. and Deacon, G. (1995). Use of rapeseed/canola protein products in finfish diets. In: Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture, (C.E. Lim & D.J. Sessa, Eds), AOCS Press, Champaign, IL, 130-156.

Iwama, G. and Nakanishi, T. (1996). The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3:innate Immunity in fish, Pp: 73-114.

Lee, J.; Duan, W.; Long, J.M.; Ingram, D.K. and Mattson, M.P. (2000). Dietary restriction increases the number of newly generated neural cells, and induces BDNF expression, in the dentate gyrus of rats. Journal of Molecular Neuroscience, 15(2), 99-108.

Magnadottir, B. (2006). Innate immunity of fish (overview). Fish and Shellfish Immunology. 20: 137-151.

Mir, M.A. and Agrewala, J.N. (2008). JN. Dietary polyphenols in modulation of the immune system. In: Vassallo N, editor. Polyphenols and health: new and recent advances.Nova Science Publishers; p: 245-272.

Nootash, Sh.; Sheikhzadeh, N.; Baradaran, B.; Khani Oushani, A.; Maleki Moghadam, M.R.; Nofouzi, K. et al. (2013). Green tea (*Camellia sinensis*) administration induces expression of immune relevant genes and iochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Fish & Shellfish Immunology 35: 1916-1923.

Ojagh, S.M.; Sahari, M.A. and Rezaaei, M. (2005). Effect of natural antioxidants on quality of common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) during storage with ice, Journal of Marine Science and technology. 4: 1-7.

Pratheepa, V.; Ramesh, S. and Sukumaran, N. (2010). Immunomodulatory effect of *Aegle maemelos* leaf extract on freshwater fish *Cyprinus carpio* infected by bacterial pathogen *Aeromonas hydrophila*, Pharmaceutical Biology. 48(11): 1224-1239.

Rao, V.Y.; Das, B.K.; Jyotymayee, P. and Chakrabarti, R. (2006). Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*, Fish and Shellfish Immunology. 20:265-273.

Sahuss, S.; Das, B.K.; Pradhan, I.; Mohapatra, B.C.; Mishra, B.K. and Sarangi, N. (2006). Effect Magnifera Indic Kernel as a feed additive on imunity and resistance to Aeromoas hydrophila in Labeo rohita finger lings. Fish and Shell fish Immunology, 23: 109-118.

Sheikhzadeh, N.; Nofouzi, K.; Delazar, A. and Khani Oushani, A. (2011). Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camel- lia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus* mykiss). Fish and Shellfish Immunology, 31, 1268-1269.

Siwicki, A.K. and Anderson, D.P. (1993). Nonspecific defence mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. Pages 105-112 in: Siviliks AK, Anderson DP and Waluga editores. Disease diagnosis and prevention methods, IFI, Olsztyn, Poland, FAO-project GCP/INT/JPA.

Thrall, M.A. (2004). Verterinary Haematology and Clinical Chemistry. Williams and Wilkins CO., Philadelphia 72(19): 79-85.

Weber, J.M.; Ruzindana-Umunyana, A.; Imbeault, L. and Sircar, S. (2003). Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins. Antiviral Research, 58:167-173.

Yim, M.B. Yim, H.S.; Lee, C.; Kang, S.A. and Chock, P.B. (2001). Protein glycation, creation of catalytic sites for free radical generation. Annals of the New York Academy of Sciences, 928: 48-53.

# Investigating Effect of adding *Camelia siensies* powder to diet of *Cyprinus carpio* and its effect on immune factors

Khodadadi, M.[1]; Shokufeh Ranjbar, SH.[2]

Received: 13.06.2015 Accepted: 28.11.2015

**Abstract**

In this experiment the effects of *Camellia sinensis* as a phytobiotic on the immunity factors of the *Cyprinus carpio* was examined. For this purpose 360 juvenile *Cyprinus carpio* with the average weight of 22± 1g were selected and after being adapted to the environment the fish were stored in 12 tanks (30 fish in each tank). The *Camellia sinensis* was added to the diet in three levels 1.5% (treatment 2) 3% (treatment 3) and 5% (treatment 4) and the diet without *Camellia sinensis* was used for the control group (treatment 1). Each treatment was recurred 3 times a day. The fish were fed 3% of their weight. At the end of the 45 day treatment period, 15 fish were randomly selected from each treatment and their blood sample was taken from the caudal vein. The immunity factors including differential white blood cell count, total protein, immunoglobulin M (IgM) serum, albumin and lysozyme were analyzed and the results showed that the lysozyme activity had Significantly difference in compared with control treatment ($P<0.05$) and maximum amount of it was observed in 1.5 % treatment that was equal to 135.67±15.33 . Also, maximum of total Protein 4.89±0.48 and maximum of immunoglubin M 3.35±0.52 were in 1.5 % treatment ($P<0.05$), but albumin amount was alfected by none of measured factors in exprement ($P>0.05$). In general that prescribing *Camellia sinensis* at 1.5% level orally stimulates some non-specific blood and immune factors and it can be used as the immunity stimulant for the juvenile *Cyprinus carpio*.

**Key words**: *Camellia sinensis*, *Cyprinus carpio*, Immune factors, Phytobiotic

1- Associate Professor, Department of Fisheries, Islamic Azad University, Ahvaz Branch, Ahvaz, Iran
2- MSc Student of Aquaculture, Islamic Azad University, Ahvaz Branch, Ahvaz, Iran
**Corresponding Author:** Khodadadi, M., E-mail: mjkhodadadi@gmail.com